

**Die Wirkung von einigen Antimetaboliten  
und Antibiotica auf das Wachstum eines  
heterotransplantierten menschlichen Tumors, GW-77**

von

**H. Jürgen Grüner**

aus

**Tübingen**







Aus der Chirurgischen Klinik mit Poliklinik  
der Universität Erlangen-Nürnberg  
Direktor: Prof. Dr. med. G. Hegemann

---

# **Die Wirkung von einigen Antimetaboliten und Antibiotica auf das Wachstum eines heterotransplantierten menschlichen Tumors, GW-77**

Inaugural - Dissertation  
zur Erlangung der Doktorwürde  
der Hohen Medizinischen Fakultät  
der Friedrich-Alexander-Universität  
Erlangen-Nürnberg



vorgelegt  
von  
**H. Jürgen Grüner**  
aus  
**Tübingen**

Gedruckt mit der Erlaubnis der Medizinischen Fakultät  
der Universität Erlangen-Nürnberg



Dekan: Prof. Dr. W. Schiefer

Referent: Prof. Dr. med. G. Hegemann

Tag der mündlichen Prüfung: 11. 9. 1970

## Inhaltsübersicht

### Seite

|                                                                                              |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Einleitung                                                                                   | 1  |
| - Kurze Beschreibung der heute in der Chemotherapie<br>verwendeten Gruppen von Cytostatica - |    |
| 1. Radioaktive Isotope                                                                       | 2  |
| 2. Alkylierende Substanzen                                                                   | 2  |
| 3. Antimetabolite                                                                            | 3  |
| 4. Antibiotica                                                                               | 3  |
| 5. Pflanzenalkaloide                                                                         | 4  |
| 6. Hormone                                                                                   | 4  |
| 7. Sonstige Cytostatica                                                                      | 4  |
| Material und Methodik                                                                        | 5  |
| Ergebnisse                                                                                   | 8  |
| 1. Antimetaboliten                                                                           | 10 |
| a) 2,6 - Diaminopurin                                                                        | 10 |
| b) 5 - Trifluormethyl -2' - desoxyuridin                                                     | 11 |
| c) 5 - Azacytidin                                                                            | 12 |
| d) Cytosin - Arabinosid                                                                      | 13 |
| 2. Gruppe der Antibiotica mit cytostatischer<br>Wirkung                                      | 14 |
| a) Actinomycin C                                                                             | 14 |
| b) Actinomycin D                                                                             | 15 |
| c) Rubidomycin                                                                               | 16 |
| d) Mitomycin                                                                                 | 17 |
| Diskussion                                                                                   | 18 |
| Zusammenfassung                                                                              | 29 |



## E i n l e i t u n g

An Versuchen spezifische Eigenschaften der Tumorzellen für eine gezielte Chemotherapie heranzuziehen, hat es nicht gefehlt. So versuchte man z.B. besondere Stoffwechselprodukte (Vorstufen des Melanins der Melanomenzellen<sup>35)</sup>), Unterschiede in der Energiegewinnung der Tumorzellen, wie die bei diesen in höherem Maße ablaufende anaerobe Glykolyse mit Anhäufung von Milchsäure<sup>48)</sup>, oder Hormonabhängigkeiten der Tumoren als Ansatzpunkte auszunützen. Diese Experimente scheiterten jedoch oder erwiesen sich als Behandlungsmodus nur für ganz bestimmte Neoplasmen als gangbar. Die Folge davon ist, daß auch heute noch eine Methode ganz im Vordergrund steht, nämlich die Einflußnahme auf Zellteilung und Zellwachstum, welche ja bei der Tumorzelle im allgemeinen erheblich über dem der normalen Zelle liegen.

Eine solche Einflußnahme kann geschehen entweder durch Behinderung des Zellteilungsvorganges selbst, wie dies durch die Mitoseblocker erreicht wird, oder durch Strukturveränderungen in der DNS, als der für die Vermehrung und die Weitergabe der genetischen Information der Zelle entscheidenden Substanz, wie auch über eine Beeinflussung der Synthese der für die Strukturhaltung, für Wachstum und Vermehrung der Zellen so wichtigen Proteine, wie dies etwa durch eine Hemmung der RNS - Synthese durch einige Antibiotica und Antimetaboliten geschieht.

Aus dieser spezifischen Art der Einflußnahme ergeben sich schon klar die Nebenwirkungen: Mit den sich in schneller Teilung befindlichen Tumorzellen werden natürlich prinzipiell alle Zellen in ihrem Wachstum beeinträchtigt.

Besonders wirkt sich dies jedoch auf die sich schon normalerweise in schneller Teilung befindlichen Gewebe aus, also besonders auf die Zellen des Knochenmarks und der Schleimhäute, vornehmlich der des Intestinaltraktes. Die Schädigung des Knochenmarks kann dabei über alle Zwischenstufen bis zur aplastischen Anämie gehen, die der Schleimhäute zu Schleimhautblutungen, gastrointestinalen Beschwerden und Diarrhöen führen. Unter Berücksichtigung dieser erwähnten Wirkungen und Nebenwirkungen haben sich folgende Substanzen in der Humanmedizin bewährt:

### 1. Radioaktive Isotope

Diese Substanzen, z.B.  $P^{32}$  und  $J^{131}$  wirken auf Grund physikalischer Eigenschaften, nämlich ihrer beta- oder gamma-Strahlung, wobei es durch diese Strahleneinwirkung zu einer partiellen Zerstörung der Basen im DNS-Molekül kommt, wodurch die identische Reduplikation der DNS, also die Neusynthese der DNS nach einem gegebenen Muster beeinträchtigt wird.<sup>29)</sup>

### 2. Alkylierende Substanzen

Die Alkylantien wirken dadurch, daß sie erstens Alkylreste an die Basen der DNS einführen, wodurch die normale Anordnung der komplementären Basen im DNS-Molekül zerstört wird, zum zweiten dadurch, daß sie eine weitgehende Aufspaltung des Phosphat-Ribose-Rückgrates der DNS bewirken, wie durch die in vitro auftretende Abnahme der Viskosität und die dabei gleichzeitig auftretenden dialysierbaren Bestandteile von DNS bewiesen werden konnte und drittens durch

ihre vernetzende Wirkung, wodurch kurze, verzweigte DNS-Ketten entstehen. <sup>18) 39)</sup>

### 3. Antimetabolite

Bei der Entwicklung der Antimetabolite stand der Gedanke im Vordergrund, daß durch Entzug von Vitaminen oder anderen unbedingt für die Zellvermehrung wichtigen Substanzen oder durch Induzierung von Strukturveränderungen im DNS-Molekül durch Einbau falscher Basen das Wachstum von Tumoren gehemmt werden könne. Dieses Ziel kann erreicht werden etwa durch Anbieten falscher Vorstufen für die Zelle wichtiger Substanzen, wodurch dann durch kompetitive Hemmung, einem in der Pharmakologie häufig verwendeten Prinzip die Funktion wichtiger Enzyme ausgeschaltet wird, wie z.B. die Ausschaltung der Orotidindecarboxylase durch 5-Azacytidin <sup>45)</sup>, oder die Einführung falscher Bestandteile in die alpha-Helix durch Verwendung von Cytosin-Arabinosid. <sup>7) 37)</sup>

Der Beginn der Verwendung von Antimetaboliten wurde mit der Einführung der Folsäureantagonisten durch Farber et al. <sup>11)</sup> gemacht. Dabei wird die Fölsinsäure, der Donator des aktiven Formyls, und damit das Coenzym F <sup>26)</sup> wesentlich in seiner Funktion beeinträchtigt.

### 4. Antibiotica

Auf Grund ihrer cytostatischen Wirkung wurden eine Anzahl von Antibiotica in die Chemotherapie eingeführt, so besonders die 1940 von Waksman und Woodruff entdeckten Actinomycine. <sup>46)</sup> Als weitere cytostatisch wirksame Antibiotica wurden hier Mitomycin und Rubidomycin verwendet.

## 5. Pflanzenalkaloide

Hier seien als Beispiel das durch die Blockierung der Mitose wirksame Colchizin <sup>8)</sup>, die Podophyllinderivate, wie etwa das Proresid, und die Vinca-Alkaloide, wie etwa die Medikamente Velbe und Oncovin erwähnt.

## 6. Hormone

Die Tatsache, daß durch Hormoneinwirkung das Wachstum mancher Geschwülste beeinflusbar ist, macht man sich z.B. bei der Behandlung des Prostatacarzinoms mittels Östrogenen zunutze.

## 7. Sonstige Cytostatica

Schließlich gibt es noch eine Gruppe uneinheitlich wirksamer Substanzen, von denen das Urethan, das Atebrin, das Arsen, sowie das Natulan erwähnt seien.<sup>50)</sup>

## Material und Methodik

Bei dem in diesen Versuchen verwendeten Tumor handelte es sich um den experimentellen Tumor GW-77, einem Carzinom aus dem Colon einer 77-jährigen Frau <sup>12)</sup>. Als Versuchstiere wurden nicht vorbehandelte Goldhamster (*Mesocricetus auratus*) und zwar insgesamt etwa 400 Tiere, davon ca. 100 Kontrolltiere und 300 Versuchstiere, mit einem Durchschnittsgewicht von 50-60 g verwendet. Am sechsten Tag nach der Überpflanzung wurden die Tiere in Versuchsgruppen eingeteilt und die Tumoren das erste Mal gemessen. Die Tiere wurden numeriert, damit der für die spätere Berechnung der Wachstumsfaktoren notwendige Vergleich zwischen den verschiedenen Tumorumfängen vorgenommen werden konnte. Die Tiere wurden in Gruppen von 9-11 Tieren je nach Versuch aufgeteilt. Die Application der Medikamente erfolgte, wenn nicht besonders vermerkt, intraperitoneal. Der Behandlungszeitraum erstreckte sich immer über sieben Tage.

Die Tiere wurden vor der Überpflanzung der Tumoren mittels N-Methyl- cyclohexenyl-methyl-barbitursäure (Evipan-Na<sup>®</sup>) 100 mg/kg Tier, i.p.) betäubt, die Backentaschen wurden ausgestülpt, mittels einer milden antiseptischen Lösung gereinigt und auf einer Korkplatte fixiert. Dann wurden 0,1 ml einer Tumorsuspension mit einer dicken Kanüle in die Bindegewebsschicht je einer Backentasche injiziert. Die Suspension wurde folgendermaßen zubereitet: 17-20 Tage alte, in der Backentasche unbehandelter Hamster gewachsene Tumoren wurden steril exzidiert, mit der Hand homogenisiert, und das Homogenisat zu einer 20 prozentigen Tumorklösung mittels Penicillin (100 E/ml) und Streptomycin (0,6 mg/ml)-haltiger Locke-Ringerlösung verdünnt.

Die verwendeten Medikamente lagen entweder in Reinsub-

stanz vor, wurden abgewogen und kurz vor der Injektion mit 0,95 prozentiger steriler Kochsalzlösung zubereitet, oder in handelsüblicher Form als Ampullen oder Stechflaschen, wobei die Verdünnung ebenfalls kurz vor der Injektion erfolgte. Soweit Stechflaschen verwendet werden konnten, wurde eine Stammlösung hergestellt, aus der die jeweils benötigte Menge entnommen und kurz vor der Injektion verdünnt wurde. Die Medikamente wie auch die Stammlösungen wurden im Kühlschrank, soweit nötig, unter Lichtabschluß aufbewahrt. Die Verdünnung erfolgte so, daß pro Injektione jeweils 10 ml Flüssigkeit pro kg Tiergewicht gegeben wurden (einzige Ausnahme: 2,6 - Diaminopurin: Hier wurden 20 ml pro kg Tiergewicht gespritzt. Außerdem mußte die Substanz als Suspension verabreicht werden. Alle übrigen Medikamente konnten als Lösungen gespritzt werden.) Die Kontrolltiere erhielten jeweils das Lösungsmittel, hier also NaCl (0,95 %) in einer Menge, die der Flüssigkeitsmenge der behandelten Tiere entsprach. Wenn die Medikamente per os verabreicht wurden, wurde so verdünnt, daß die verabreichte Flüssigkeitsmenge 1 ml Flüssigkeit pro kg Tier entsprach. Die Verdünnung erfolgte hierbei mittels aq.dest.

Folgende Medikamente wurden verwendet:

### 1. Antimetaboliten

2,6-Diaminopurin (Calbiochem R.Bäsel, Frankfurt),  
5 - Trifluormethyl -2' -desoxyuridin (Heinrich Mack Nachf. Illertissen/Bay.) 5 - Azacytidin (Serva Entwicklungslabor Heidelberg), Cytosin - Arabinosid (Heinrich Mack Nachf. Illertissen/Bay.)

### 2. Antibiotica

Actinomycin C (Sanamycin, Bayer), Rubidomycin (Bayer),  
Actinomycin D (Cosmegen<sup>®</sup> Lyovac<sup>®</sup>, Merck Sharp & Dohme),  
Mitomycin (Bristol Laboratories)

Soweit interessant seien einige dieser Substanzen formelmäßig dargestellt.

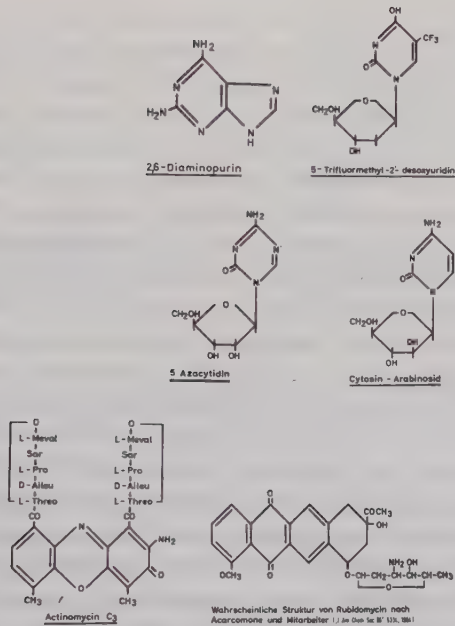


Abb.1: Formelbilder einiger in der vorliegenden Arbeit verwendeter Cytostatica

## E r g e b n i s s e

Die Angehrate der Tumoren erwies sich als sehr hoch (je nach Versuch 95-100 %). Da das Tumolvolumen von Tier zu Tier starken Schwankungen unterlag, wurde als neue Bezugsgröße der Wachstumsfaktor eingeführt. Dieser ergibt sich als Quotient aus dem jeweiligen Tumolvolumen und dem Tumolvolumen zum Zeitpunkt der ersten Messung. Da hier, wie bei pharmakologischen Versuchen im allgemeinen, eine Aussage nur mittels eines statistischen Mittelwertes möglich ist, wurde jeweils das arithmetische Mittel aller Wachstumsfaktoren in einer Gruppe ermittelt und dazu die jeweilige Abweichung des Mittelwertes errechnet. Wie bei der Betrachtung aller wachsenden Organismen erwies es sich auch hier als zweckmäßig, bei der graphischen Darstellung des Vorganges in Form eines Diagramms einen halblogarithmischen Maßstab zu verwenden. Dabei weist die Ordinate, auf der die jeweilige Größe des Wachstumsfaktors aufgetragen ist, einen logarithmischen, die Abszisse, die den jeweiligen Tag der Messung und den Zeitabstand zwischen den Messungen zeigt, einen linearen Maßstab auf. Es ergab sich, daß beim unbehandelten Tier das Wachstum der Tumoren gleichmäßig erfolgte, wodurch sich im halblogarithmischen Diagramm in etwa eine Gerade ergab.

Um einen Bezugswert für die cytostatische Wirksamkeit der geprüften Pharmaka zu bekommen, wurde die Hemmung als weitere Rechengröße eingeführt. Sie ergibt sich als Resultat aus dem Produkt des Quotienten von Wachstumsfaktor der behandelten Gruppe und Wachstumsfaktor der Kontrollgruppe multipliziert mit dem Faktor 100, das von 100 subtrahiert wird; dieses Ergebnis stellt somit eine Prozentzahl dar. Einer besseren Übersicht halber seien die verwendeten Rechengrößen formelmäßig dargestellt:

$$W = \frac{V_a}{V_o}$$

$$H = 100 - \frac{W_b}{W_o} \text{ mal } 100$$

$$M_F = \frac{s_{\bar{x}}}{W} \text{ mal } 100$$

$s_{\bar{x}}$  = Absoluter mittlerer Fehler des Mittelwertes des Wachstumsfaktors

$V_o$  = Volumen zum Zeitpunkt der ersten Messung

$V_a$  = Volumen zum Zeitpunkt der jeweiligen Messung

$W_o$  = Wachstumsfaktor der Kontrolltiere

$W_b$  = Wachstumsfaktor der behandelten Tiere

$H$  = Hemmung

$M_F$  = Mittlere Fehler des Mittelwertes des Wachstumsfaktors in Prozent des Wachstumsfaktors

Die Letalität wurde so angegeben, daß von der Zahl der gestorbenen Versuchstiere die Zahl der gestorbenen Kontrolltiere abgezogen wurde.

Zur Beschreibung der Ergebnisse: Die jeweilige Größe der Hemmung wird in Form von Tabellen in Prozent angegeben. Es handelt sich dabei jeweils um den Durchschnittswert einer Versuchsgruppe. Dabei ist H1 die Hemmung am ersten Tag nach Abschluß der Behandlung, H4 vier Tage, und H8 acht Tage nach Abschluß der Behandlung. Ebenso wird der mittlere Fehler des Wachstumsfaktors der zugehörigen Kontrollgruppe in Prozent der Größe des entsprechenden Wachstumsfaktors angegeben ( $M_F$ ). Das Verhalten der Wachstumsfaktoren während des Versuchszeitraumes wurde für alle Versuche in Form von Diagrammen gezeichnet, wobei die bei einer der  $LD_{10}$  entsprechenden Dosierung erhaltenen Diagramme für jedes Medikament wiedergegeben werden.

## 1. Antimetaboliten

### a) 2,6 - Diaminopurin

Mit 2,6 - Diaminopurin konnte bei einer Dosierung von 50 mg/kg/die, die der LD<sub>10</sub> entsprach, eine Hemmung von 39 und 43 % am ersten bzw. achten Tag nach Behandlungsende erzielt werden (Abb.2). Die größte Hemmung ergab sich bei dieser wie auch bei den übrigen Dosierungen am 4. Tag nach Ende der Therapie und betrug bei der LD<sub>10</sub> 49 %. Es zeigte sich, daß auch eine höhere Dosierung keine wesentliche Erhöhung der Hemmung acht Tage nach Therapieende brachte.

Tabelle 1

| Dosis<br>kg/die | Gesamt-<br>dosis | H1 | M <sub>F</sub> | H4 | M <sub>F</sub> | H8 | M <sub>F</sub> | Letalität |
|-----------------|------------------|----|----------------|----|----------------|----|----------------|-----------|
| 100 mg          | 700 mg           | 65 | 13,5           | 69 | 12,4           | 44 | 6,5            | 5/9       |
| 75 mg           | 525 mg           | 43 | 11,9           | 54 | 14,2           | 50 | 18,2           | 2/10      |
| 50 mg           | 350 mg           | 39 | 11,9           | 49 | 14,2           | 43 | 18,2           | 1/10      |

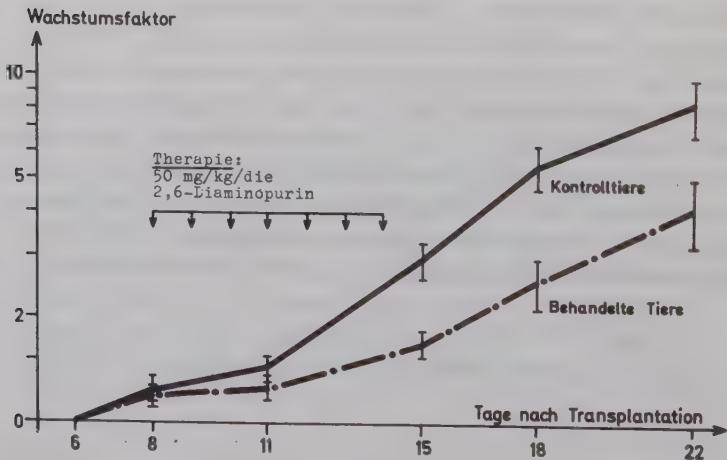


Abb.2: Die Wirkung von 2,6 - Diaminopurin auf das Wachstum von Tumor GW-77

b) 5 - Trifluormethyl - 2' - desoxyuridin

Bei der der LD<sub>10</sub> entsprechenden Dosierung von 150 mg/kg wurde eine Hemmung zwischen 39 und 53 % erzielt (Abb.3). Durch Steigerung der Dosis war es zwar möglich die Hemmwirkung am ersten, und besonders am 4.Tag nach Therapieende zu erhöhen, doch mußte dieser Effekt mit einer Steigerung der Letalität in Kauf genommen werden.

Tabelle 2

| Dosis<br>kg/die | Gesamt-<br>dosis | H1 | M <sub>F</sub> | H4 | M <sub>F</sub> | H8                      | M <sub>F</sub> | Letalität |
|-----------------|------------------|----|----------------|----|----------------|-------------------------|----------------|-----------|
| 350 mg          | 2450 mg          | 50 | 13,5           | 79 | 12,4           | alle Tiere<br>gestorben |                | 6/9       |
| 250 mg          | 1750 mg          | 48 | 11,9           | 60 | 14,2           | 60                      | 18,2           | 2/10      |
| 150 mg          | 1050 mg          | 39 | 11,9           | 42 | 14,2           | 53                      | 18,2           | 1/10      |

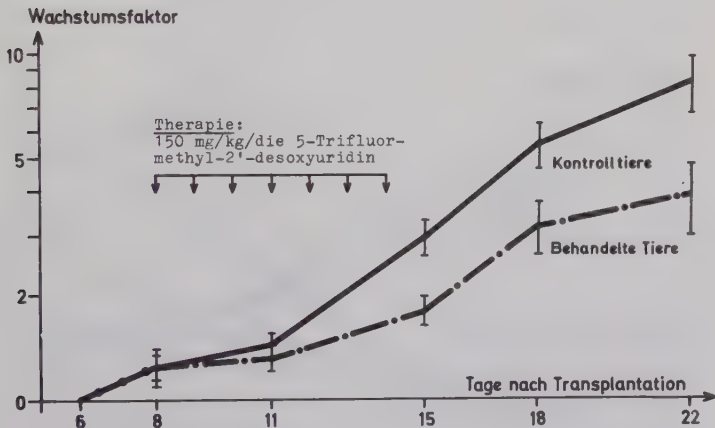


Abb.3: Die Wirkung von 5 - Trifluormethyl - 2' - desoxyuridin auf das Wachstum von Tumor GW-77

c) 5-Azacytidin

Bei einer in etwa der  $LD_{10}$  entsprechenden Dosierung von 2 mg/kg/die gelang es hier die höchste Hemmung 4 Tage nach Ende der Therapie mit 58 % zu erzielen (Abb.4). Die Hemmung einen Tag nach Ende der Behandlung ergab sich dabei zu 29 %, die acht Tage danach zu 32 %. Durch Steigerung der Dosis gelang es unter beträchtlichem Anstieg der Letalität diese Werte zu erhöhen, wobei besonders die Hemmung acht Tage nach Abschluß der Behandlung wesentlich gesteigert werden konnte.

Tabelle 3

| Dosis<br>kg/die | Gesamt-<br>dosis | H1 | M <sub>F</sub> | H4                   | M <sub>F</sub> | H8 | M <sub>F</sub> | Letalität |
|-----------------|------------------|----|----------------|----------------------|----------------|----|----------------|-----------|
| 6 mg            | 42 mg            | 57 | 13,5           | alle Tiere gestorben |                |    |                | 6/9       |
| 4 mg            | 28 mg            | 54 | 11,9           | 67                   | 14,2           | 60 | 18,2           | 7/9       |
| 2 mg            | 14 mg            | 29 | 11,9           | 58                   | 14,2           | 32 | 18,2           | 1/9       |

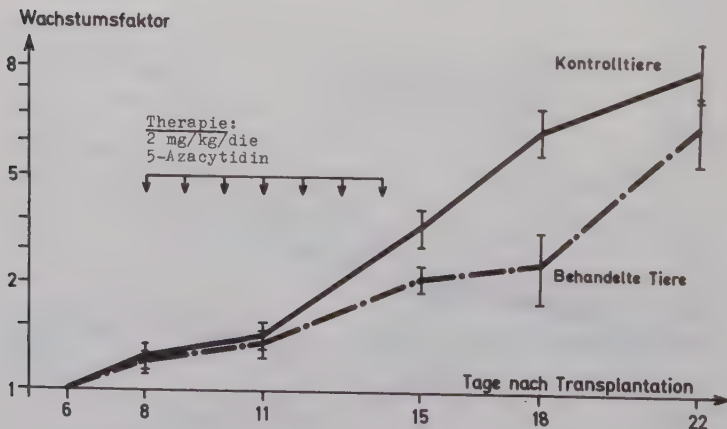


Abb.4: Die Wirkung von 5-Azacytidin auf das Wachstum von Tumor GW-77

d) Cytosin - Arabinosid

Mit 2 mal 8 mg/kg/die konnten bei dieser Substanz Hem-  
mungen zwischen 19 und 28 % erzielt werden. Diese Dosis  
entsprach der  $LD_{10}$ . (Abb.5)

Tabelle 4

| Dosis<br>kg/die | Gesamt-<br>dosis | H1         | M <sub>F</sub> | H4 | M <sub>F</sub> | H8 | M <sub>F</sub> | Letalität |
|-----------------|------------------|------------|----------------|----|----------------|----|----------------|-----------|
| 2mal 20mg s.c.  | 280 mg           | alle Tiere | gestorben      |    |                |    |                | 6/9       |
| 2mal 8mg s.c.   | 112 mg           | 19         | 11,9           | 28 | 14,2           | 28 | 18,2           | 1/10      |

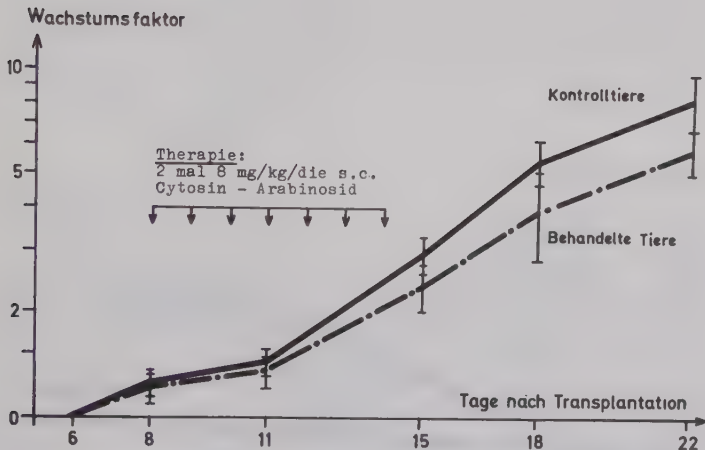


Abb.5: Die Wirkung von Cytosin-Arabinosid auf das  
Wachstum von Tumor GW-77

## 2. Gruppe der Antibiotica mit cytostatischer Wirkung

### a) Actinomycin C

Mit Actinomycin C konnten hier die erheblichen Hemmwerte von 60 bis 83 % zwischen 1. und 8.Tag nach Therapieende bei einer der  $LD_{10}$  entsprechenden Dosierung von 70 gamma/kg/die erzielt werden (Abb.6). Mittels Steigerung der Dosis gelang es, diese Werte noch zu erhöhen. Auch bei etwas niedrigerer Dosierung fielen die Werte nur geringfügig ab.

Tabelle 5

| Dosis<br>kg/die | Gesamt-<br>dosis | H1 | M <sub>F</sub> | H4 | M <sub>F</sub> | H8 | M <sub>F</sub> | Letalität |
|-----------------|------------------|----|----------------|----|----------------|----|----------------|-----------|
| 80 ga.          | 560 ga.          | 66 | 15,8           | 83 | 14,5           | 90 | 45,3           | 4/10      |
| 70 ga.          | 490 ga.          | 60 | 9,1            | 68 | 12,4           | 83 | 16,5           | 1/11      |
| 60 ga.          | 420 ga.          | 62 | 13,4           | 73 | 14,6           | 82 | 30,6           | 0/10      |
| 50 ga.p.os      | 350 ga.          | 6  | 14,6           | 24 | 17,6           | 10 | 17,9           | 0/10      |
| 100 ga.p.os     | 700 ga.          | 10 | 14,6           | 0  | 17,6           | 1  | 17,9           | 0/10      |

+) ga = gamma

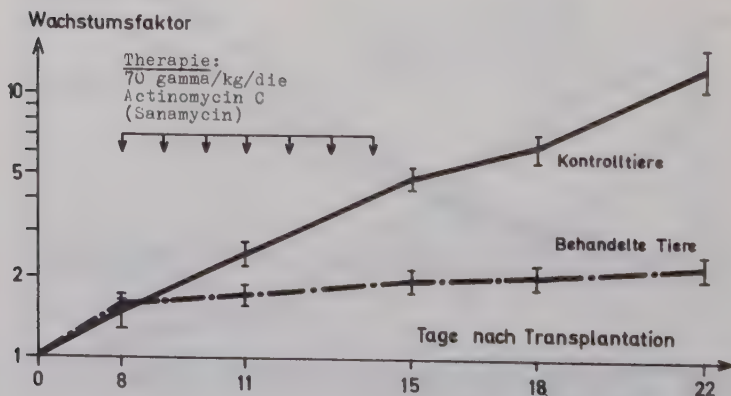


Abb.6: Die Wirkung von Actinomycin C (Sanamycin) auf das Wachstum von Tumor GW-77

b) Actinomycin D

Bei der hier verwendeten, der  $LD_{10}$  entsprechenden Dosierung von 50 gamma/kg/die ergaben sich Werte für die Hemmung, die in etwa den bei Actinomycin C erhaltenen Werten entsprechen (Abb.7).

Tabelle 6

| Dosis<br>kg/die                            | Gesamt-<br>dosis | H1 | M <sub>F</sub> | H4 | M <sub>F</sub> | H8 | M <sub>F</sub> | Letalität         |
|--------------------------------------------|------------------|----|----------------|----|----------------|----|----------------|-------------------|
| 50 gamma<br>zum Vergleich<br>Actinomycin C | 350 gamma        | 61 | 9,1            | 69 | 12,4           | 84 | 16,5           | 0/10 <sup>+</sup> |
| 70 gamma                                   | 490 gamma        | 60 | 9,1            | 68 | 12,4           | 83 | 16,5           | 1/11              |

+) Die Letalität ergab sich aus der Letalität 1/10 bei den mit Actinomycin D behandelten Tieren und der Letalität der Kontrolltiere als 0/10, so daß man mit guter Annäherung sagen kann, daß diese Dosis der  $LD_{10}$  entspricht. Somit läßt sich also sagen, daß 70 gamma Actinomycin C in ihrer Wirkung wie auch in ihrer Toxizität 50 gamma Actinomycin D entsprechen.

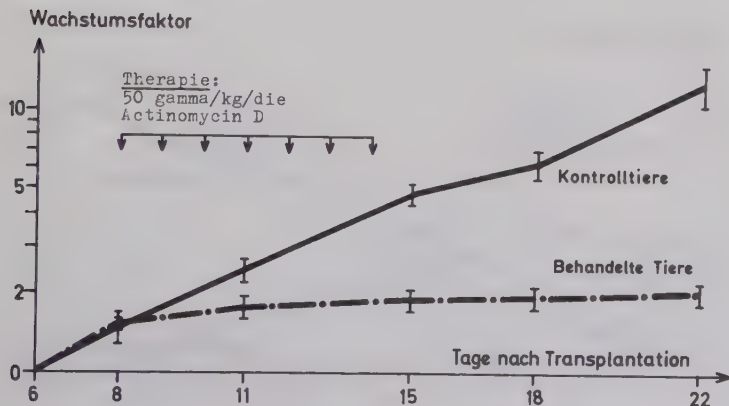


Abb.7: Die Wirkung von Actinomycin D auf das Wachstum von Tumor GW-77

c) Rubidomycin

Mit dieser Substanz gelang es nicht, bei Tumor GW-77 eindeutig eine Wachstumshemmung nachzuweisen (Abb.8).

Tabelle 7

| Dosis<br>kg/die | Gesamt-<br>dosis | H1              | M <sub>F</sub> | H4 | M <sub>F</sub> | H8 | M <sub>F</sub> | Letalität            |
|-----------------|------------------|-----------------|----------------|----|----------------|----|----------------|----------------------|
| 0,8 mg          | 5,6 mg           | 0               | 13,4           | 0  | 14,6           | 19 | 30,6           | 0/10                 |
| 1,0 mg          | 7,0 mg           | 23 <sup>+</sup> | 9,1            | 3  | 12,4           | 0  | 16,5           | 1/10                 |
| 1,3 mg          | 9,1 mg           | 5               | 14,6           | 15 | 17,6           | 0  | 17,9           | 0/10                 |
| (0,5 mg         | 3,5 mg           | 5               | 15,8           | 41 | 14,5           | 43 | 45,3           | 0/10 <sup>++</sup> ) |
| (1,0 mg         | 7,0 mg           | 47              | 15,8           | 67 | 14,5           | 63 | 45,3           | 3/10 <sup>++</sup> ) |

+) Der Wert für diese Hemmung wurde durch die Tatsache beeinflusst, daß der Wachstumsfaktor dieser Tiere zu Beginn der Behandlung erheblich unter dem der Kontrolltiere lag. Dieser Wert kann infolgedessen bei der Beurteilung der Wirksamkeit dieses Medikaments am Tumor GW-77 nicht voll in Rechnung gestellt werden.

++) Die Ergebnisse der letzten beiden Versuche wurden in Klammern gesetzt. Die dabei erzielten Hemmungen konnten durch keine späteren Versuche bestätigt werden. In diesen beiden Versuchen erwiesen sich die Wachstumsfaktoren der Kontrollgruppe als gegenüber der zu erwartenden Norm erheblich überhöht und waren zudem mit einem großen mittleren Fehler behaftet. Als Ergebnis kann somit praktisch nur die Angabe über die Letalität verwendet werden.

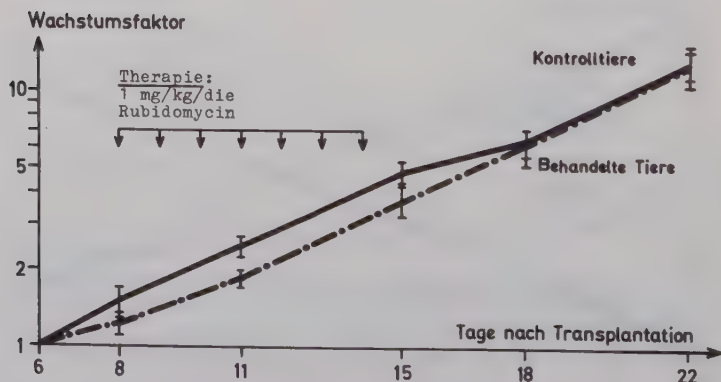


Abb.8: Die Wirkung von Rubidomycin auf das Wachstum von Tumor GW-77

#### d) Mitomycin

Bei einer der  $LD_{10}$  entsprechenden Dosierung konnten mit dieser Substanz Hemmungen zwischen 26 und 76 % erzielt werden (Abb.9). Eine Steigerung der Dosis erhöhte dabei vorwiegend die Hemmwirkung, die die Substanz einen Tag nach Therapieende entfaltete. Ebenso senkte eine Verminderung der Dosis vorwiegend die Hemmwerte am ersten und vierten Tag nach Therapieende.

Tabelle 8

| Dosis<br>kg/die | Gesamt-<br>dosis | H1 | M <sub>F</sub> | H4 | M <sub>F</sub> | H8 | M <sub>F</sub> | Letalität |
|-----------------|------------------|----|----------------|----|----------------|----|----------------|-----------|
| 1,0 mg          | 7,0 mg           | 48 | 15,8           | 81 | 14,5           | 86 | 45,3           | 2/9       |
| 0,8 mg          | 5,6 mg           | 26 | 14,6           | 52 | 17,6           | 76 | 17,9           | 0/10      |
| 0,5 mg          | 3,5 mg           | 19 | 14,6           | 32 | 17,6           | 68 | 17,9           | 0/10      |
| 0,4 mg          | 2,8 mg           | 24 | 9,1            | 27 | 12,4           | 49 | 16,5           | 0/10      |
| 0,3 mg          | 2,1 mg           | 5  | 13,4           | 37 | 14,6           | 54 | 30,6           | 0/10      |

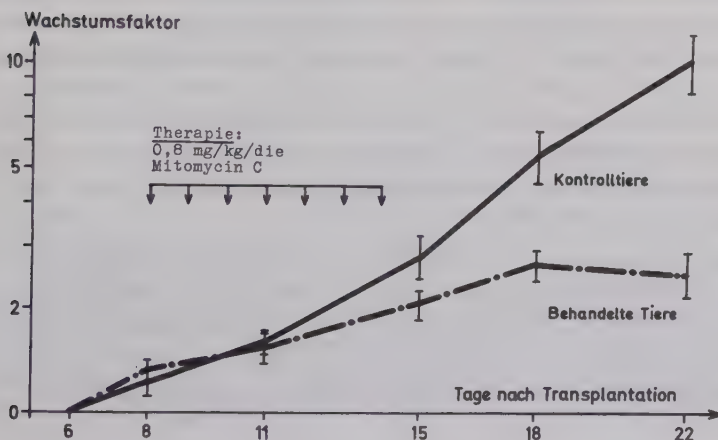


Abb.9: Die Wirkung von Mitomycin auf das Wachstum von Tumor GW-77

## D i s k u s s i o n

Da man auf Grund der bisherigen Erfahrungen in der Humanpathologie von einer idealen Chemotherapie insgesamt noch weit entfernt ist, gewinnt die präklinische Prüfung neuer cytostatischer Substanzen zunehmend an Bedeutung. Voraussetzung hierfür ist jedoch ein zuverlässiges Modell, an dem sich die Wirksamkeit neuer Cytostatica exakt erproben läßt. Als ein solches Modell hat sich heute auf dem Gebiet der experimentellen Chemotherapie der transplantable Tumor, dessen Verhaltensweise bekannt ist, und der somit reproduzierbare Ergebnisse gestattet, besonders aus versuchstechnischen Gründen bewährt. Die Verwendung transplantierbarer Tumoren hat bei der pharmakologischen und biochemischen Erprobung von Cytostatica gegenüber immer wieder neu induzierten Tumoren unter anderem den Vorteil, daß sich von dem zur Verfügung stehenden Tumormaterial ausgehend ein relativ homogenes Gemisch herstellen läßt, wodurch bewirkt wird, daß jedes Tier in einem Versuch tatsächlich den gleichen Tumor trägt <sup>28)</sup>, und es somit möglich wird, eindeutige Vergleiche zwischen dem nicht medikamentös beeinflussten Tumorwachstum und der Wirkung des Therapeutikums zu ziehen. Außerdem kann man erwarten, daß der jeweils gleiche Tumor, der ja aus einem einheitlichen Gemisch verschiedenen Tieren überpflanzt wurde, die gleichen Reaktionen zeigt. Die Wiederholbarkeit, ein wichtiges Kriterium naturwissenschaftlicher Versuche, wird zusätzlich ermöglicht.

Während heute noch in den meisten Krebsforschungslaboratorien für diese Zwecke im Tier entstandene Tumoren verwendet werden, wurde hier ein menschlicher Tumor verwendet, nämlich der Colontumor GW-77, der in einem zum ursprünglichen Spender heterologen Tier, nämlich im Gold-

hamster, weitergezüchtet wurde. Der Nachweis, daß solche Tumoren noch menschliche Eigenschaften besitzen, konnte z.B. durch Goldenberg<sup>13)</sup>, sowie Goldenberg und Götz<sup>16)</sup> wie folgt erbracht werden: Mittels des Diffusionsverfahrens nach Ouchterlony konnte für zwei andere heterolog transplantierbare Colontumoren (H.Ad.Nr.1 und GW-39)<sup>15)</sup> und neuerdings auch für den hier verwendeten Tumor GW-77 nachgewiesen werden<sup>16)</sup>, daß diese Gewebe gegenüber Humanantiserum die Eigenschaften eines Antigens aufweisen. Da vom Antigencharakter leicht auf den genetischen Inhalt einer Zelle Rückschlüsse möglich sind<sup>51)</sup>, beweist dieser Versuch, daß diese Tumoren noch menschliche Eigenschaften besitzen. Midgley et al.<sup>30)</sup> gelang es nachzuweisen, daß Colchizin in einem heterolog in eine Hamsterbackentasche überpflanzten menschlichen Hodentumorgewebe arretierte Metaphasen hervorrief, während sich das Gewebe des Hamsters erwartungsgemäß als relativ resistent gegenüber diesem Alkaloid zeigte. Pierce, Dixon und Verney<sup>32)</sup>, sowie Hertz<sup>24)</sup> gelang es durch den Nachweis von choriongonadotropen Hormon in menschlichen, in die Backentasche von Hamstern heterotransplantierten Chorioncarzinomen weitere Hinweise auf die humanen Eigenschaften von derartigen Transplantattumoren zu erbringen. Somit erscheint das vorliegende Modell wohl geeigneter Analogschlüsse in klinischer Hinsicht bezüglich des Verhaltens von menschlichen Tumoren gegenüber den hier verwendeten Cytostatica zuzulassen, als die herkömmlich verwendeten Tiertumoren, wenn auch zuweilen Speciesunterschiede in der Verarbeitung einer Substanz berücksichtigt werden müssen.

Die Hamsterbackentasche erweist sich dabei als Modell für Heterotransplantationen menschlicher Tumoren zur Prüfung von Cytostatica als besonders geeignet. Als "immunologisch privilegierter Ort"<sup>2)3)</sup> bietet sie den besonderen Vorteil, daß ein immunologischer Einfluß von Seiten des Wirts

auf das Heterotransplantat weitgehend ausgeschlossen wird. Wie durch Hauttransplantationsversuche von Billingham, Ferrigan und Silvers <sup>3)</sup> bewiesen werden konnte, werden offenbar gegen das in der Backentasche befindliche Heterotransplantat keine Antikörper gebildet. Der Grund für diese Besonderheit liegt in einem Mangel an Lymphgefäßen in der Hamsterbackentasche begründet. <sup>49)</sup> In sie verbrachte Gewebsantigene können deshalb nicht mit den lymphatischen Organen des Tieres in Kontakt kommen und so die Bildung von Antikörpern hervorrufen. <sup>12)</sup>

Das vorgegebene Modell gewährt außerdem eine Reihe von Voraussetzungen, wie sie von Stock für die experimentelle Chemotherapie gefordert wurden <sup>40)</sup>: Hohe Angehrate und gleichmäßiges Wachstum, Ansprechbarkeit auf tumorhemmende Substanzen sowie geringe Nebenwirkungen in Bezug etwa auf den Gewichtsverlust der Versuchstiere. Die Backentasche bietet schließlich den Vorteil, daß sie beliebig oft austülpbar ist und der Tumor somit optimal in Höhe, Länge und Breite gemessen werden kann.

Da für eine klinische Anwendung der vorgegebenen Mittel die Relation zwischen Wirksamkeit, hier durch die Hemmung ausgedrückt, und Toxizität interessiert, wurde versucht, die Dosis Letalis 10 ( $LD_{10}$ ) als Vergleichsmaßstab herauszuarbeiten. (Siehe Abb. 10 und 11) Infolge der unterschiedlichen Toxizität der einzelnen Substanzen ergab sich dabei natürlich die Notwendigkeit einer jeweils adäquaten Dosierung. Zusätzlich erschien es sinnvoll, auch die Wirkungen bei höherer bzw. niedrigerer Dosierung anzugeben, da diese Größen ja Aufschluß darüber geben, inwieweit die optimale cytostatische Wirkung des Mittels etwa schon bei der  $LD_{10}$  erreicht werden kann und inwieweit auch bei nicht toxischen Dosen durch das Medikament noch eine cytostatische Wirkung erzielt werden kann. Da ja bei klini-

scher Anwendung toxische Nebenwirkungen durch entsprechende zusätzliche Behandlung zumindest partiell aufgehoben werden können, erscheint es nicht unwesentlich, aufzuzeigen ob eine Steigerung der cytostatischen Wirkungen durch eine Erhöhung der Dosis möglich ist oder nicht. Bekanntlich gelingt es, Nebenwirkungen auf das hämatopoetische System infolge der Cytostase durch Knochenmarkstransplantationen nach Therapieende zu kompensieren. Erhöhte Infektanfälligkeit als Folge der Abschwächung aller immunologischen Funktionen könnte etwa durch zusätzliche Antibioticagaben ausgeglichen werden.

Um den zeitlichen Verlauf des Tumorwachstums deutlich werden zu lassen, wurden die Wachstumsfaktoren über den Tagen, an denen sie gemessen wurden, in Form von Diagrammen aufgezeichnet. Repräsentativ wurden hier für jedes Medikament die Kurven der Wachstumsfaktoren wiedergegeben, die bei einer der  $LD_{10}$  entsprechenden Dosierung erhalten wurden.

Die vorliegenden Ergebnisse lassen deutlich werden, daß von sämtlichen in der vorliegenden Arbeit geprüften cytostatisch wirksamen Präparaten alle Antimetaboliten und von den Antibiotica die beiden Actinomycine eine schon kurz nach Beginn der Therapie deutlich werdende Beeinflussung des Tumorwachstums zeigen. Während diese Wirkung bei den Actinomycinen langfristig aufrechterhalten werden konnte (s. Abb. 6, 7) dauerte sie bei den Antimetaboliten im typischen Fall nur vorübergehend an. (Abb. 2, 4) Bei nicht toxischer Dosierung ist hier nach vorübergehender Wachstumshemmung ein deutlicher Anstieg der Kurve der Wachstumsfaktoren sichtbar, d.h. die Wirkung des Mittels läßt nach Abschluß der Therapie schnell nach. Eine Hemmung bleibt auch hier erhalten, da sich die der Versuchsgruppe entsprechende Kurve der Wachstumsfaktoren infolge der vorüber-

gehenden Cytostase während der Behandlung auf einem gegenüber der Kontrollgruppe niedrigerem Niveau bewegt. Die Steigung dieser Kurven nimmt jedoch zusehends nach Abschluß der Therapie zu und nähert sich immer mehr einer Parallelen zur Kontrollgruppe, ja erreicht zwischen 4. und 8.Tag nach Therapieende beim 5 - Azacytidin (Abb.4) und 2,6 -Diäminopurin (Abb. 2) sogar eine größere Steigung als die Kontrollgruppe, was einem schnelleren Wachstum der entsprechenden Tumoren im Vergleich zur Wachstumsgeschwindigkeit der Kontrollgruppe nach Beendigung der Therapie gleichkommt. Dieser geschilderte Wachstumsmodus wird am deutlichsten bei dem eben schon erwähnten 5 - Azacytidin und 2,6 - Diaminopurin, etwas weniger deutlich wird er bei 5 - Trifluormethyl-2' - desoxyuridin (Abb.3). Letzterer Antimetabolit zeigt als einziger aus der Gruppe dieser Substanzen eine im Vergleich zu den anderen Antimetaboliten relativ lang andauernde Wirkung, so daß die Zunahme der Steigung der Kurve der Wachstumsfaktoren auch noch nach Abschluß der Behandlung im Vergleich zu den oben erwähnten beiden Antimetaboliten gering ist. Beim Antimetaboliten Cytosin - Arabinosid, der bei Tumor GW-77 in nicht toxischer Dosierung eine geringere cyto-statische Aktivität aufweist als die anderen hier verwendeten Antimetaboliten, ist dieser Wachstumsmodus nur angedeutet (Abb.5).

Dieses Verhalten gibt zu einem Vergleich mit der biochemischen Wirkungsweise der verwendeten Pharmaca Anlaß.

5 - Azacytidin, das sich hier als typisches kurz wirksames Mittel zeigte, legt durch eine Blockierung der Orotidin - 5 - Phosphat - Decarboxylase <sup>45)</sup> die gesamte endogene Produktion der Zelle an Pyrimidinnucleotiden still. Dies führt für den Zellkern zu einer Blockierung der

DNS- Reduplikation, für die Proteinsynthese der Zelle zu einem Stillstand, da ja die erforderlichen Ribonucleinsäuren nicht mehr gebildet werden können. Nach Verschwinden des 5 - Azacytidins hört diese offenbar kompetitive Hemmung auf, und Wachstum und Vermehrung der Zellen wird wieder möglich. Die Tatsache, daß dieses Wachstum schneller vor sich geht als zuvor bzw. als das der zugehörigen Kontrollgruppe, gibt zu der Vermutung Anlaß, daß die vorher vor dem Syntheseblock aufgestauten Nucleotidbausteine nach Beendigung der Blockierung schnell wieder für eine normale Synthese genutzt werden können.

Die Wirkung von 2,6 - Diamonopurin erfolgt durch ein Eingreifen in die Atmungskette <sup>6)38)</sup>. Auch die Wirkung dieser Substanz läßt nach Therapieende schnell nach. Es handelt sich also bei den Wirkungen, die durch diese beiden Antimetaboliten gezeitigt werden, um schnell reversible Vorgänge.

Das wie viele andere fluorierte Pyrimidine von Charles Heidelberger synthetisierte 5 - Trifluormethyl - 2' - desoxyuridin <sup>21)22)</sup> wird in geringem Umfang in die DNS eingebaut <sup>23)</sup>. Damit wird eine dauernde Veränderung der genetischen Information der betroffenen Zellen bewirkt, die je nach Ort des Einbaus zu unterschiedlich schädigenden Folgen bezüglich der Synthese bestimmter Enzyme führen kann. Als Ergebnis tritt hier nicht eine schnell reversible Hemmung auf, sondern die Wirkung dieser Substanz hält im Vergleich zu den anderen hier verwendeten Antimetaboliten längere Zeit an.

Cytosin - Arabinosid, der vierte der hier verwendeten Antimetaboliten, wurde unabhängig voneinander von Hunter <sup>25)</sup> sowie Walwick und Mitarbeitern <sup>47)</sup> synthetisiert und bezüglich seiner cytostatischen Aktivitäten von den Upjohn Laboratories <sup>10)</sup> und klinisch von Talley <sup>43)</sup> untersucht.

Abgesehen davon, daß diese Substanz die für die DNS-Synthese notwendige Desoxycytidin-Menge in der Zelle herabsetzt <sup>7)</sup> und die DNS - Polymerase der Säugetierzelle in ihrer Funktion beeinträchtigt <sup>27)</sup>, soll sie auch noch zu einem geringen Umfang in die DNS selbst eingebaut werden <sup>7)37)</sup>. Da die Hemmwirkungen von Cytosin -

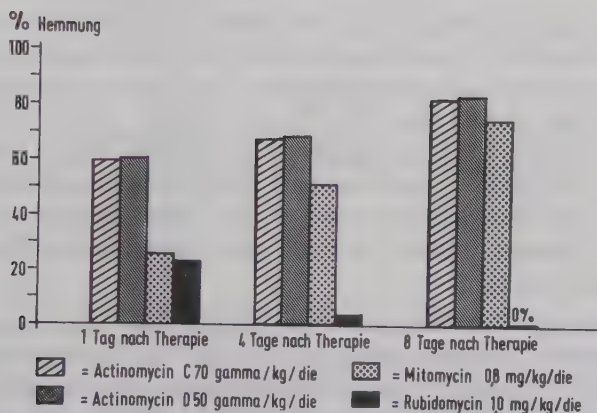
Arabinosid dann z.T. auf letzterem Wirkungsmodus beruhen würden, scheint eine gewisse Ähnlichkeit, die das zeitliche Verhalten der Wachstumsfaktoren unter dem Einfluß dieses Antimetaboliten mit dem zeitlichen Verhalten der Wachstumsfaktoren unter dem Einfluß von 5 - Trifluor-methyl - 2' - desoxyuridin aufwies, verständlich.

Zwei Antibiotica aus der Gruppe der Actinomycine wurden in der vorliegenden Arbeit verwendet und zwar das 1949 von Brockmann aus einer Kultur von *Actinomyces chrysomallus* isolierte Actinomycin C <sup>5)</sup> und das 1954 aus *Streptomyces parvulus* isolierte Actinomycin D. <sup>4)</sup> Die cytostatische Aktivität von Actinomycin C wurde zuerst von Hackmann beschrieben. <sup>17)</sup> Es erwies sich auftrennbar in die drei Actinomycine C<sub>1</sub>, C<sub>2</sub> und C<sub>3</sub>, wobei sich C<sub>1</sub> als identisch mit Actinomycin D erwies. <sup>34)</sup>

Bei den Actinomycinen beruht die cytostatische Wirkung auf einer Blockierung der zelleigenen RNS-Synthese. Dies wird bewirkt durch eine Anlagerung der Actinomycine an das DNS - Molekül <sup>19)</sup>, wobei nach Reich <sup>34)</sup> den in diesem enthaltenen Guaninmolekülen eine entscheidende Bedeutung zukommt. Die dabei entstehende Verbindung <sup>19)</sup> scheint von so großer Stabilität zu sein, daß die hervorgerufene schnell einsetzende Wirkung auch langfristig aufrechterhalten werden kann.

Mitomycin, das dritte bei den vorliegenden Versuchen verwendete Antibioticum wurde von Hata et al. aus *Streptomyces caespitosus* isoliert <sup>20)</sup>. Die ersten klinischen Untersuchungen wurden 1959 von Shimada et al. publiziert. <sup>36)</sup>

Die Wirkungsweise von Mitomycin scheint nach Oboshi <sup>31)</sup> der der Alkylantien ähnlich zu sein. Diese wirken, wie schon in der Einleitung erwähnt, durch Eingriffe am DNS-Molekül, die praktisch alle eine Mutation der genetischen Substanz darstellen. Die Folge davon ist, daß die hervorgerufenen Wirkungen im vollen Umfang erst bei den folgenden Generationen in Erscheinung treten, wie auch an dem typischen Späteffekt, d.h. der stark einsetzenden Hemmwirkung erst nach Therapieende bei diesem Mittel deutlich wird.



**Abb.10:** Graphische Darstellung der für die Hemmung erhaltenen Werte bei den in den vorliegenden Versuchen verwendeten Antibiotica.

In Bezug auf die Stärke der cytostatischen Wirkung, hier ausgedrückt durch die Hemmung als auch in Bezug auf die Dauer dieser Wirkung schneiden in den geschilderten Versuchen die beiden Actinomycine aus der Gruppe der Antibiotica am besten ab (Abb.6,7 und 10). Interessanterweise konnten mit Actinomycin C schon bei zwei anderen in die Hamsterbackentasche heterotransplantierten menschlichen Tumoren vergleichbar große Wachstumshemmungen erzielt werden.<sup>14)</sup> Für die Wirksamkeit der beiden hier verwendeten Actinomycine sowie des Mitomycin sind in der einschlägigen Literatur genügend Beispiele bekannt.<sup>15)41)42)44)</sup>

Von den Antimetaboliten erwies sich bezüglich Stärke der Wirkung wie auch Wirkungsdauer (Abb.10) das 5 - Trifluormethyl - 2' - desoxyuridin als hervorragend, dürfte aber den drei oben genannten Antibiotica nicht gleichwertig sein.

Für die geringe Wirksamkeit von Sanamycin per os in den beiden geschilderten Versuchen muß die niedrige Dosierung verantwortlich gemacht werden. Aus einer Veröffentlichung von Philips et al.<sup>33)</sup> geht hervor, daß die Relation für die LD<sub>50</sub> per os und i.p. bei Actinomycin D etwa 16 beträgt. Da hinsichtlich Toxizität wie auch Wirksamkeit für Actinomycin C und D eine feste Relation aufgestellt werden konnte (Tab.5), gilt diese Relation auch für Actinomycin C.

Ein Rückgang des Tumorwachstums konnte als Folge einer zunehmenden cytostatischen Wirkung infolge Steigerung der Dosis durch Actinomycin D, Mitomycin (s.auch Abb.9), 5 - Trifluormethyl - 2' - desoxyuridin und 5 - Azacytidin erreicht werden. Während dieser Effekt bei den Antimetaboliten nur bei stark toxischer Dosierung erreicht werden konnte, ließ er sich bei Mitomycin auch bei nicht toxischer Dosierung hervorrufen. Letzteres dürfte mit der

oben aufgestellten Behauptung übereinstimmen, daß die volle Wirkung der Alkylantien erst bei den folgenden Zellteilungen und bei den kommenden Zellgenerationen voll zum Tragen kommt.

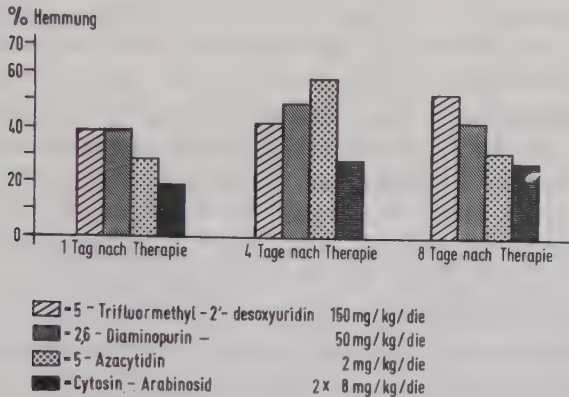


Abb. 11: Graphische Darstellung der für die Hemmung erhaltenen Werte bei den in den vorliegenden Versuchen verwendeten Antimetaboliten

Das 1963 von Dubost et al.<sup>9)</sup> aus zwei Stämmen von *Streptomyces coeruleorubidus* isolierte und mit dem schon bekannten Daunomycin identische<sup>1)</sup> Rubidomycin erwies sich bei nicht toxischer Dosierung als unwirksam gegenüber Tumor GW-77. Zwei der mit dieser Substanz durchgeführten Versuche schienen zwar auf eine gewisse cytostatische Aktivität hinzudeuten, doch konnten die dabei erhaltenen

Ergebnisse später in keinsten Weise bestätigt werden.

Zwei Gesichtspunkte werden aus den vorliegenden Versuchsergebnissen deutlich:

1. Das vorliegende Modell spricht sehr empfindlich auf die cytostatische Wirkung von Antibiotica, besonders den hier verwendeten Actinomycinen, wie auch des Mitomycin an.
2. Dasselbe Modell erweist sich als relativ refraktär in Bezug auf seine Empfindlichkeit gegenüber cyto-statischen Eigenschaften von Antimetaboliten.

Daraus läßt sich der Schluß ziehen, daß dieses Modell besonders dazu geeignet wäre, die Hemmwirkungen neuer cyto-statisch wirkender Antibiotica auszutesten. Die dabei an den beiden Actinomycinen gefundenen Hemmungen, die ja bei äquitoxischer Dosierung nahezu gleich ausfielen, könnten als eine Art Vergleichsmaßstab dienen, an dem man dabei die Hemmwirkung neuer zu erprobender Antibiotica mißt. Sollten sich dabei Substanzen finden, die bezüglich ihrer cytostatischen Eigenschaften am vorliegenden Modell, wobei natürlich, wie in den hier beschriebenen Versuchen, auch gleichzeitig die Toxizität berücksichtigt werden müßte, die der Actinomycine überragen, so dürfte es sicherlich lohnend sein, diese Substanzen einmal einer genaueren evtl. klinischen Prüfung zu unterziehen.

## Z u s a m m e n f a s s u n g

Es wird die Verwendung eines heterolog in die Hamsterbackentasche transplantierten menschlichen Colontumors für chemotherapeutische Experimente beschrieben. Da für eine dauerhafte Weiterüberpflanzung dieses Tumors keine Vorbehandlung der Wirtstiere erforderlich ist und weiterhin immunologische Einflüsse von Seiten des Hamsters auf den Tumor an diesem speziellen Transplantationsort ausgeschlossen sind, erscheint dieses Modell zur Überprüfung der cytostatischen Aktivität neuer Chemotherapeutica besonders geeignet. Um die Schwankungen, die sich durch die individuelle Tumorgroße ergaben, auszuschließen, wurde ein Wachstumsfaktor eingeführt. Die für diese Größe erhaltenen Werte ergaben beim unbehandelten Tier bei Übertragung in ein halblogarithmisches Diagramm eine Gerade.

Mit dieser Methode konnte beim Tumor GW-77 unter den hier verwendeten Substanzen eine besonders hohe cytostatische Aktivität bei den Antibiotica Actinomycin C und D, und dem alkylierend wirkenden Antibioticum Mitomycin gefunden werden. Eine geringere aber noch relativ gute cytostatische Aktivität konnte beim Antimetaboliten 5 - Trifluormethyl - 2' - desoxyuridin gezeigt werden. Die quantitative Wirksamkeit der verwendeten Mittel sowie das zeitliche Verhalten der unter ihrer Wirkung erzielten Wachstumsfaktoren wird beschrieben und miteinander verglichen. Es zeigte sich dabei, daß das vorliegende Modell sehr empfindlich auf die cytostatischen Eigenschaften von Antibiotica reagiert, während es gegenüber den tumorhemmenden Eigenschaften von Antimetaboliten als relativ resistent bezeichnet werden muß. Somit wäre diese Versuchsanordnung besonders für eine experimentelle Überprüfung neuer cytostatisch wirksamer Antibiotica geeignet.

## Literaturverzeichnis

- 1) Bernard, J., C. Jacquillat, M. Boiron, Y. Najean, M. Seligmann, J. Tanzer, M. Weil et P. Lortholary: Essai de traitement des leucémies aiguës lymphoblastiques et myéloblastiques par un antibiotique nouveau: La Rubidomycine. La Presse Médicale 75:951-955, 1967
- 2) Billingham, R.E., and W.K. Silvers: Skin Transplants and the Hamster. Sc. Amer. 208: 118-127, Jan. 1963
- 3) Billingham, R.E., L.W. Ferrigan, and W.K. Silvers: Cheek Pouch of the Syrian Hamster and Tissue Transplantation Immunity. Science 132: 1488, 1960
- 4) Brockmann, H.: Structural Differences of the Actinomycins and their Derivatives. Ann. New York Acad. Sc. 89: 323-335, 1962
- 5) Brockmann, H. und N. Grubhofer: Actinomycin C. Naturwiss. 36: 376-377, 1949
- 6) Brown, G.B.: The Biosynthesis of Nucleic Acids as a Basis for an Approach to Chemotherapy. Ann. New York Acad. Sc. 60: 185-294, 1954
- 7) Chu, M.Y., and G.A. Fischer: Comparative Studies of Leukemic Cells Sensitive and Resistant to Cytosine - Arabinoside. Biochem. Pharmacol. 14:333-341, 1965
- 8) Dixon, W.E., and M.A. Malden: Colchicin with Special Reference to its Mode of Action and Effect on Bone-Marrow. J. Physiol. 37: 50-76, 1908
- 9) Dubost, M., P. Ganter, R. Maral, L. Ninet, S. Pinnert, J. Preud'homme, G.H. Werner: Un nouvel Antibiotique à propriétés cytostatiques: La Rubidomycine. Comptes rendus hebdomadaires des Séances de l'Académie des Sciences 257: 1813-1815, 1965

- 10) Evans, J.S., E.A. Musser, Antitumor Activity of 1- $\beta$ -D-G.D. Mengel, K.R. Forsblad, Arabinosylcytosine-hydrochloride. Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. 106: 350 - 353, 1961
- 11) Farber, S., E.C. Cutler, The Action of Pteroylglutamic J.W. Hawkins, J.H. Harrison, Conjugates on Man. Science 106: E.C. Peirce, and G.G. Lenz: 617-621, 1947
- 12) Goldenberg, D.M.: Die Verwendung einiger neuer Human-Tumorstämme in der experimentellen Krebsforschung. Arch. Geschwulstforsch. 29: 1-17, 1967
- 13) Goldenberg, D.M.: Die Verwendung einiger neuer Human-Tumorstämme in der experimentellen Krebsforschung. Arch. Geschwulstforsch. 29: 18-35, 1967
- 14) Goldenberg, D.M., and S. Witte: Chemotherapy of two Morphologically Similar Human Tumors Growing in the Cheek Pouch of the Golden Hamster: H.Ad.No.1 and GW-39. Europ. J. Cancer 3: 95-101, 1967
- 15) Goldenberg, D.M., S. Witte, B. Hindringer und G. Hartmann: Zur experimentellen Chemotherapie eines menschlichen Adenocarcinoms in der Backentasche des Goldhamsters: Die Wirkung von Actinomycin C. Arzneim. Forsch. (Drug Res.) 16: 808-812, 1966
- 16) Goldenberg, D.M. und H. Götz: In Vorbereitung
- 17) Hackmann, C.: Experimentelle Untersuchungen über die Wirkung von Actinomycin C. (HBF 386) bei bösartigen Geschwülsten. Z. Krebsforschung 58: 607-613, 1952
- 18) Hall, T.C.: Chemotherapy of Cancer. New Engl. J. Med. 266: 129-134, 178-185, 238-245, 289 - 296, 1962

- 19) Hartmann, G. und U. Coy: Zum biologischen Wirkungsmechanismus der Actinomycine. *Angew. Chemie* 74: 501, 1962
  
- 20) Hata, T., R. Sana, R. Sugawara, A. Matsumae, K. Kanamori, T. Shima, and T. Hoshi.: Mitomycin, a New Antibiotic from *Streptomyces*. *J. Antibiotics* 9: 142-146, 1956
  
- 21) Heidelberger, C., D. G. Parsons, and D. C. Remy: Synthesis of 5 - Trifluoro-methyluracil, and 5 - Trifluoromethyl - 2' - deoxyuridine. *J. Am. Chem. Soc.* 84: 3597 - 3598, 1962
  
- 22) Heidelberger, C., D. G. Parsons, and D. C. Remy: Synthesis of 5 - Trifluoromethyl - 2' - deoxyuridine. *J. Med. Chem.* 7: 1 - 5, 1954
  
- 23) Heidelberger, C., J. Bochar, and B. Kampschroer: Fluorinated Pyrimidines XXIV. In Vivo Metabolism of 5 - Trifluoromethyluracil - 2 - C<sup>14</sup> and 5 - Trifluoromethyl - 2' - deoxyuridine - 2 - C<sup>14</sup>. *Cancer Res.* 25: 377 - 381, 1965
  
- 24) Hertz, R.: Choriocarcinoma of Woman Maintained in Serial Passage in Hamster and Rat. *Proc. Soc. Exper. Biol. Med.* 102: 77-81, 1959
  
- 25) Hunter, J. H.: US. Patent 3: 183, 226, May 11, 1965
  
- 26) Karlson, P.: Kurzes Lehrbuch der Biochemie. 4. Auflage S. 92-93, 1964  
Georg Thieme Verlag, Stuttgart
  
- 27) Kimball, A. P., and M. J. Wilson: Inhibition of DNA-Polymerase by B-D-Arabinosylcytosine and Reversal of Inhibition by Deoxycytidin - 5' - triphosphate. *Proc. Soc. Exp. Biol.*: 429 - 432, 1968

- 28) Klein, G.: The Usefulness and Limitations of Tumor Transplantation in Cancer Research: A Review. Cancer Res.19: 343-358, 1959
- 29) Kuschinsky, G. und H. Lüllmann: Kurzes Lehrbuch der Pharmakologie. 3. Auflage, S. 256-260, 1967 Georg Thieme Verlag, Stuttgart
- 30) Midgley, A.R., B. Pierce, and F. J. Dixon: Nature of Colchicin Resistance in the Golden Hamster. Science 130: 40-41, 1959
- 31) Oboshi, S.: Cross-Resistance between Mitomycin C and Alkylating Agents in Experimental Chemotherapy. Gann, Tokyo 50: 147 - 154, 1959
- 32) Pierce, G.B., F. J. Dixon, and E. Verney: Endocrine Function of a Heterotransplantable Human Embryonal Carcinoma. Arch. Path. 67: 204-210, 1959
- 33) Philips, F.S., H. S. Schwartz, S. S. Sternberg, and C. T. C. Tan.: Toxicity of Actinomycin D. Ann. New York Acad. Sc. 89: 348-360, 1960
- 34) Reich, E.: Biochemistry of Actinomycin. Cancer Res. 23: 1428-1441, 1963
- 35) Riley, V.: Tumors as Unique Biological Tools in Basic Biochemical Studies. Tr. New York Acad. Sc. 22: 348-364, 1960
- 36) Shimada, N., R. Ishii, Y. Sato, T. Hatori, M. Fukui, K. Kubouchi, K. Sukie, T. Noguchi, and T. Takeishi: Experimental and Clinical Studies on Mitomycin A and X. Chemotherapy, 4: 305-306, 1956
- 37) Silagi, S.: Metabolism of 1-B-D-Arabinofuranosylcytosin in L Cells. Cancer Res. 25: 1446-1453, 1965

- 38) Skipper, H.E.,  
and F.M.Schabel, Jr.: Reversal of Growth Inhibitory  
Action of Urethan by 2,6 - Diamino-  
purine. Arch. Biochem. 40: 476-478,  
1952
- 39) Stacey, K.A.,  
M.Cobb, S.F.Cousens,  
and P.Alexander: The Reactions of the Radiomimetic  
Alkylating Agents with Macromo-  
lecules in Vitro. Ann. New York  
Acad. Sc. 68: 683 - 701, 1958
- 40) Stock, C.C.: Problems in Experimental Cancer  
Chemotherapy. Canadian Cancer Conf.  
2: 168-190, 1957
- 41) Sugiura, K.: Studies in a Tumor Spectrum VII.  
The Effect of Mitomycin C on the  
Growth of a Variety of Mouse, Rat  
and Hamster Tumors. Cancer Res. 19:  
438-445, 1959
- 42) Sugiura, K.: The Effect of Actinomycin D on  
a Spectrum of Tumors. Ann. New York  
Acad. Sc. 89: 368-371, 1960
- 43) Talley, R.W., and  
V.K.Vaitkevicius: Megaloblastosis Produced by a Cyto-  
sine Antagonist, 1-B-D-Arabinofura-  
nosylcytosine. Blood 21: 352-362,  
1963
- 44) Tan, C.T.C.,  
R.B.Golbey, C.L.Yap,  
N.Wollner,  
C.A.Hackethal,  
L.M.Murphy, H.W.Dargeon,  
and J.H.Burchenal: Clinical Experiences with Actino-  
mycins D, KS2, and F<sub>1</sub> (KS4). Ann.  
New York Acad. Sc. 89: 426-444,  
1960
- 45) Veselý, J., A.Oihák,  
and F.Sorm: Biochemical Mechanism of Drug Resi-  
stance IV. Development of Resistance  
to 5 - Azacytidine and Simultaneous  
Depression of Pyrimidine Metabolism  
in Leukemic Mice. Int.J.Cancer 2:  
639-646, 1967
- 46) Waksman, S.A., and  
H.B.Woodruff: Historical Background. Ann. New York  
Acad. Sc. 89: 287-298, 1960

- 47) Walwick, E.R.,  
C.A.Dekker, and  
W.K.Roberts: Cyclisation during the Phosphorylation of Uridine and Cytidine by Polyphosphoric Acid. A New Route to O<sup>2</sup>, 2' - Cyclonucleosides. Proc. Chem. Soc. p.84, 1959
- 48) Warburg, O.: Metabolism of Tumours: Investigations from the Kaiser Wilhelm Institute for Biology, Berlin-Dahlem. Edited. by O.Warburg. 327 pp. London: Constable, 1930
- 49) Witte, S.,  
D.M.Goldenberg und  
K.Th. Schricker: Mangel an Lymphgefäßen als Ursache der immunologischen Privilegierung der Hamsterbackentasche. Klin. Wschr. 43: 1182, 1965
- 50) Witte, S.: Fortschritte auf dem Gebiet der Chemotherapie des Krebses. Bayerisches Ärzteblatt 8:525-531, 1968
- 51) Wright, S.: Physiological Aspects of Genetics. Ann. Rev. Physiol. 7: 75-106, 1945

Herrn Professor Dr.med.G.Hegemann danke ich für  
die Überlassung des Themas.

Herrn Dr.rer.nat.Dr.med. D.M.Goldenberg bin ich  
für die Anleitung bei der Durchführung meiner  
Arbeit zu Dank verpflichtet.

## L e b e n s l a u f

Am 10. Juli 1945 wurde ich als Sohn des Arztes Dr. med. Max Grüner und seiner Frau Inge Grüner, geb. Floret, in Tübingen geboren.

Mein Abitur habe ich am Deutschen Gymnasium in Bayreuth im Juli 1964 gemacht.

Im November des gleichen Jahres begann ich an der Universität Erlangen-Nürnberg mit dem Studium der Medizin.

Das Physikum habe ich im Mai 1967 und das Staatsexamen im Juli 1970 mit der Note 1 bestanden.





## **Offsetdruck-Fotodruck**

---

**J. Hogl, 8520 Erlangen Hauptstr. 109, (Nähe Martin-Luther-Platz) Tel. 22990**

---